

キトサン及びセルロースを用いた光学異性体分離用カラムの開発研究

Development of Chromatography Columns for the Optical Isomer Separation Using Chitosan and Cellulose.

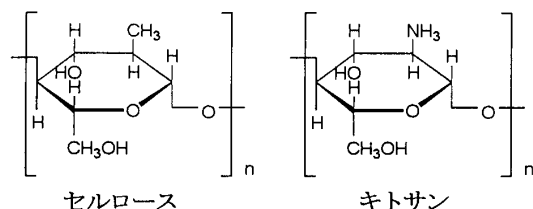
生活工学講座 9530113 高森 寛子

【目的】

高速液体クロマトグラフィーは、従来は分析が困難であった天然有機化合物や生体成分の分析を可能にしたことで、医薬の分野では欠かせないものになっている。特に、光学異性体の分離は、簡便かつ実用性の高いキラル化合物の分離・分析手段として注目を集めている。

本研究は、シリカゲルへのキトサン及びセルロースのコーティングを試み、光学異性体分離を目的としたカラムの充填剤の開発を行うことを目的とする。

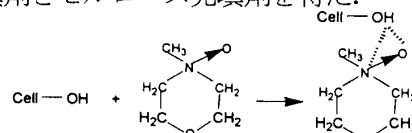
従来のセルロース系充填剤は、セルロースそのものを充填剤として用いたり、セルロースの誘導体を有機溶媒に溶解させ、化学反応によってシリカゲルに結合させたものを用いたりしていた。そのため、応用範囲が狭い、操作が困難である、という難点があった。一方、N-Methylmorpholine N-oxide・H₂O (MMNO・H₂O)はセルロースを溶解してテンセルという新しい繊維を作り出したことで注目されている。本研究では、既にキトサン固定カラムを開発し、その光学異性体分離能を見出しているが、本研究では、キトサン及びセルロースを、MMNO・H₂Oを用いてセルロース及びキトサンそのものをシリカゲルにコーティングすることによりキラル固定相とし、その光学認識能とその使用条件を調べることとする。



【方法】

セルロースを溶解することで知られているN-Methylmorpholine N-oxide・H₂O (MMNO・H₂O)がキトサンも溶解することを確認した後、MMNO・H₂Oと、キトサンまたはセルロースをそれぞれ混ぜ、これを90℃に加熱して、キトサンまたはセルロースを融解 MMNO・H₂Oに溶解させた。これに、シリ

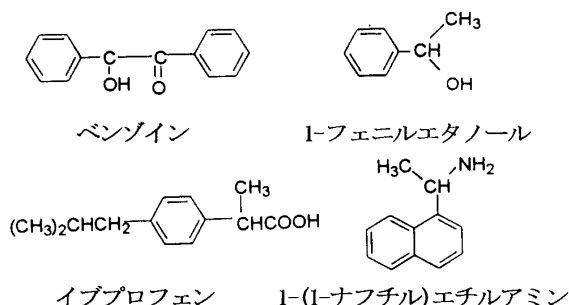
カゲルを投入し、90℃に保ちながらスターラーでゆっくり攪拌した。そして、これを吸引濾過した後、純水で洗浄し真空乾燥させて、キトサン充填剤とセルロース充填剤を得た。



MMNOにおけるセルロースの溶解機構

作成したキトサン充填剤及びセルロース充填剤について拡散反射法IR測定を行い、コーティングされているかどうかを確かめた。

これらの充填剤をそれぞれ高速液体クロマトグラフィー用カラムに充填し、光学異性体の存在する数種類の試薬を分析した。溶離液は、Hexane/2-Propanolの順相系と、メタノール/水の逆相系を用い、試薬は主にベンゾイン、1-フェニルエタノール、イブプロフェン(酸性)、1-(1-ナフチル)エチルアミン(塩基性)を用いた。



【結果・考察】

作成したキトサン充填剤とシリカゲルとの差スペクトルと、キトサンのスペクトルを比較すると、吸収波長がほぼ一致したことからキトサンがシリカゲルにコーティングされていることがわかった。同様に、セルロースもシリカゲルにコーティングされていることがわかった。

キトサン及びセルロース充填カラムによる高速液体クロマトグラフィーの結果をそれぞれ以下に示す。

1) セルロース (順相系: Hexane/2-Propanol)

移動相を Hexane/2-Propanol系とし、順相系でその比率を変えて分析を行った。光学異性体

の分離を表す二つのピークを示したが、吸着力が強すぎて良好な分離は得られなかった。また、Hexaneは非極性溶媒であるので、試料が微量しか溶解せず、分析が非常に困難であった。

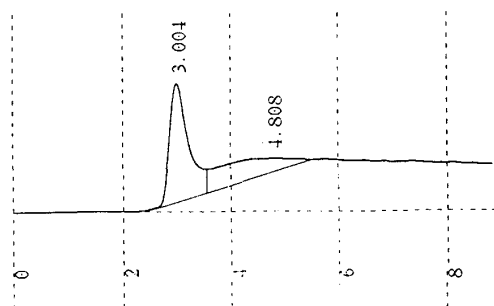


Fig. 1 Benzoin (Hexane/2-Propanol=80/20)

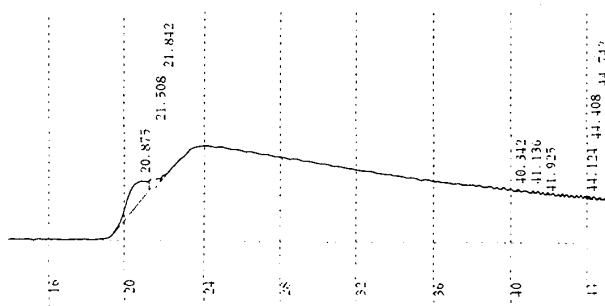
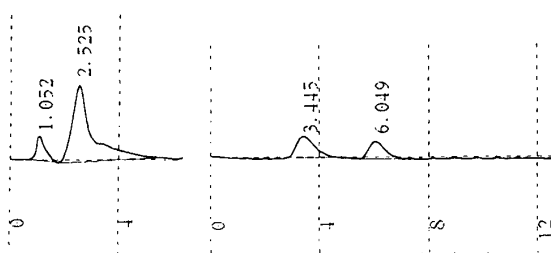


Fig. 2 Ibuprofen (Hexane/2-Propanol=80/20)

2) セルロース (逆相系 : Methanol/Water)

移動相をメタノール/水系に変えて、逆相系として分析を行った。メタノール/水=30/70で、イブプロフェン (酸性) と1-(1-ナフチル)エチルアミン (塩基性) は分離を示した。ピークがブロードであったため、移動相にギ酸を1%加えて分析を行ったところ、イブプロフェンには改善がみられた。しかし、1-(1-ナフチル)エチルアミンは分離を示さなくなった。次に、メタノール/水=30/70に、0.5M 臭化ナトリウム(NaBr)を加えることで、塩を添加して分析を行ったが、良好な結果は得られなかった。



ギ酸なし 1%ギ酸添加

Fig. 3 Ibuprofen (Methanol/Water=30/70)

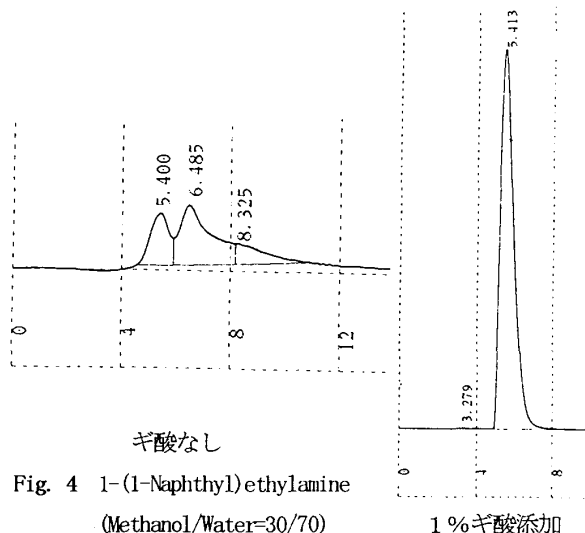


Fig. 4 1-(1-Naphthyl)ethylamine

(Methanol/Water=30/70)

1%ギ酸添加

3) キトサン (順相系 : Hexane/2-propanol)

キトサン充填カラムは、順相系にすると保持力が強く、逆相系では分離できなかった1-フェニルエタノールが完全分離した。

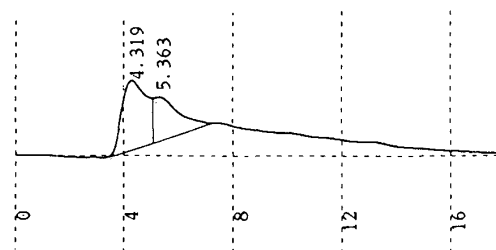


Fig. 5 1-Phenylethanol (Hexane/2-Propanol=100/0)

4) キトサン (逆相系 : Methanol/Water)

キトサン充填カラムで、移動相をメタノール/水系で分析を行った。1-フェニルエタノール以外は完全分離ではないが分離を示した。

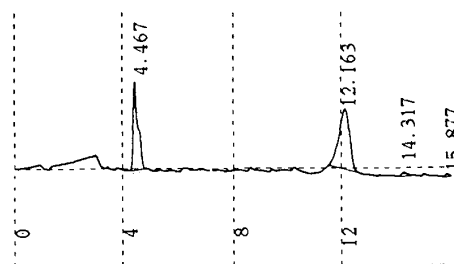


Fig. 6 Benzoin (Methanol/Water=30/70)

本研究で作成したセルロース充填カラムは酸性試料および塩基性試料における分離能が良好で逆相系に適しており、キトサン充填カラムは順相系に適していることがわかった。また、酸性試料の分離には、溶離液に少量の強酸を添加すると効果的であることも確認できた。

(指導教官 小川 昭二郎)